誌4, 395 1953 Kauffmann, F. : Enterobacteriaceae Munksgaard, Copenhagen 1954; 中川(昭) : 日細菌誌 12, 47 1957a 中川(昭) : 日細菌誌 12, 47 1957a 中川(昭) : 日細菌誌 12, 107 1957b 中川(昭) : 日細菌誌 14, 693 1959 中川(武) : 日細菌誌 10, 363 1955 植竹 : 日新医学 42, 214 1955 Uetake, H. : Proc. Intern. Genetics Symp. Tokyo 645 1956 植竹 : 日新医学 44, 66 1957

Uetake, H. : Virology 7, 253 1959 植竹 : ウィルス学の進展 第2輯 25 1960 Uetake, H. and Hagiwara, S. : Nature 186, 261 1960a 植竹, 萩原 : ウィルス 10, (3) 1960b 掲載予定 Uetake, H., Luria, S. E. and Burrous, J. W. : Virology 5, 68 1958 Uetake, H., Nakagawa, T. and Akiba, T. : J. Bact. 69, 571 1955 Uetake, H. and Uchida, T. : Virology 9, 495 1959

犬ジステンパーウイルスに関する研究*

渋 木 実*

MINORU SHIBUKI : STUDIES ON CANINE DISTEMPER VIRUS

〔受稿〕6月21日 1960〕

Laidlaw and Dunkin¹⁾ (1926) がフェレットを用いて犬ジステンパーウイルス (以下 CDV と略す) を分離し、さらにフェレットに継代することにより犬にたいする病原性の減弱をみとめ、これを予防の目的に用いるにいたつたことは、CDV 研究ならびに本病の予防における一大飛躍であつたといわねばならない。その後 CDV の研究はまいきよにいとまがないが、Haig^{2,3)} (1948), Cabasso and Cox⁴⁾ (1949) はフェレット馴化株をさらに発育鶏卵に馴化させ、この鶏胎化株がフェレットにたいする病原性をもうしうにかかわらず、フェレット、犬にたいし免疫原性をたもっていることをあきらかにし、これによつて犬の本病予防におおきな貢献をしたことは特筆すべき業績である。この鶏胎化株はさらに犬以外の動物のジステンパーの予防にも用いられ、またこの免疫原性を利用して多くの動物、また各病型のジステンパーの病原の比較研究も行われるにいたつた。

私はこれらの研究を追試するかたわら、鶏胎化の過程における卵のふ化日数の影響、また鶏胎化株の各種ふ化日数の発育鶏卵中における増殖の様相をあきらかにし、さらに「鶏胎化生ウイルス・ワクチン」の製造の条件を検討した。

日本でこの研究をおこなうにあたり、まず罹患犬からフェレットを用いてウイルスを分離し、これをアメ

リカからえられた既知 CDV と比較同定する必要がある。こうしてえられた日本の CDV を鶏胎化することをこころみ、Cabasso らの記載するような成績をえ、さらに上記実験をおこなつたのである。

実験材料と方法

1. 分離に用いた犬の材料 : 臨床的にジステンパーと診断された犬を、東京都世田谷畜犬抑留所から21頭、山口県光市から10頭、計31頭えた。それらの犬の脾臓をとり、ペニシリン 200u/ml, ストレプトマイシン 100μg/ml をくわえたブイヨンを用いて20% 乳剤とし、2000rpm, 10分遠心沈澱した上清を接種材料とした。

2. フェレット : 1950年アメリカから輸入され、武田薬品光工場内で自家繁殖されているもので、生後4月以上、1年未満のものをを用い、試験中は個室ケージに1匹ずつおさめ、屋外で隔離飼育した。

3. 子犬 : 感染試験と中和抗体産生試験とに用いた子犬は、生後約2週ごろから母犬と隔離飼育した雑種である。実験には生後約 1.5~4月のもので、中和抗体陰性であることをたしかめて用いた。

4. 発育鶏卵 : 白色レグホン種のものを、実験の目的によつて、種々のふ化日数で用いた。

5. 攻撃用ウイルス : 感染防禦試験に用いる攻撃用

* 昭和31~33年、第41, 43, 45回日本獣医学会に発表した。その一部は日獣会誌, 11 : 273, 1958 に掲載した。

** 武田薬品光工場細菌部 (部長 金子順一博士)

ウイルスは、(a) Lederle フェレット株(L-Fと略す)、(b) それぞれの分離株をフェレットに接種し、定型的ジステンパー症状を呈して瀕死期にあるものを放血致死せしめ、脾臓をとり、上述のペニシリン、ストレプトマイシン加ブイオンで20%乳剤とし、2000rpm, 15分遠心沈澱した上清を-40℃に凍結保存したものである。

6. 中和試験用ウイルス：(a) Lederle鶏胎化株(L-E株)でつくられたLederleワクチン、(b) 後にのべるように、分離したCDVを鶏胎化した株(H-15-E, など)を7日卵の漿尿膜(CAM)上に接種し、36℃, 7日間培養したのち、特有の病変をしめしたCAMを、ペニシリン、ストレプトマイシン加ブイオンに5%の割合に馬血清をくわえた液(HSB)で40%乳剤とし、-40℃に凍結保存したものを、用いのみぞみ融解して、2000rpm, 10分遠心沈澱した上清を用いた。

また、これらをGutierrez and Gorham⁵⁾にしたがって、生後1～4日の乳のみハムスターの脳内に接種継代し、発症をしめすにいたつたハムスターの脳をさらに生後1～4日の乳のみマウスの脳内に接種継代して、特徴的な脳炎症状をおこすにいたつたマウス馴化ウイルスを中和試験に用いた。感染発症したマウスの脳を上記のHSB液で10%乳剤をつくり、2000rpm, 15分遠心沈澱した上清をウイルス液とした。

7. 中和試験：血清は56℃, 30分加熱して、-15℃に凍結保存された。これらの血清の10倍階段稀釈液をHSB液でつくり、これとウイルスHSB稀釈液(CAM中和試験には100～300ID₅₀、乳のみマウス脳内中和試験には10～100LD₅₀)を等量混合し、4℃に18～24時間おいたのち^{6,7)}、7日卵のCAM上に0.2ml, あるいは乳のみマウス脳内に0.02mlずつ接種した。CAM上接種では36℃, 7日培養後、CAM上にあらわれる特有の病変の50%阻止点を血清の稀釈度でもとめ、これをその血清のED₅₀とした。乳のみマウス脳内接種では、14日間の観察で、マウスの定型的発症をとまなう死亡によつて中和の程度を判定した。

8. 感染防鼠試験：フェレット用いた。免疫注射後14日に攻撃用ウイルスを腹腔内に接種し、30日間観察した⁸⁾。

9. 発育鶏卵における感染価の測定：鶏胎化ウイルスの感染価の測定はCAM接種によつておこなつた。感染組織をブイオン(食塩水で4倍にうすめる)で40%乳剤をつくり、3000rpm, 10分遠心沈澱した上清を原液とした。これをさらに10倍階段稀釈し、各稀釈の

0.2mlずつを人工気室のCAM上に接種した。各稀釈に5～10個の7日卵を用いた。36℃, 7日培養後、肉眼的にCAMの病変をしらべ、浮腫こん濁のみのもの(±)をのぞき、結節斑をあきらかにみとめるもの(＋～卅)について、その50%終末点における稀釈度をもとめて、ID₅₀をしり、組織のウイルス量を1ID₅₀中にふくまれるウイルス量を単位としてあらわした。

実 験 成 績

1. ウイルスの分離と同定

1) フェレットにおけるウイルスの分離

臨床的にジステンパーと診断された犬31頭の20%脾臓乳剤5mlずつをフェレットの腹腔内に接種し、そのうち定型的ジステンパーの症状をしめしたものを13株えた(Table 1)。

このときの初代接種フェレットの症状の例をFig. 1にしめた。潜伏期の平均は6.8日(3～14日)で、熱型は二峯性のものもあつたが、単峯のもの、不規則のものもあつた。症状の持続は平均11.3日(5～20日)で、やべて死亡するか、瀕死におちいり殺された。この経過は成書の記載より多少長いようであるが、Koprowski⁹⁾、Mansi¹⁰⁾の記載とは一致している。また対照試験に用いたL-F株によるフェレットの症状とほぼ同様であつた。Singleton and Hunter¹¹⁾の報告では潜伏期のさらに長いものもあるから、かならずしもLarin¹²⁾のいうCDVのBまたはC群ではないと考える。初発症状は発熱である。何度以上を発熱と考えるかは、正常体温の動揺と個体差のため、はつきりしたことはわからないが、およそ39.6℃以上を発熱とみてよいと考えられる。ついで、2～3日以内に下唇、下腹部に小紅斑を生じ、数日後全身にひろがる。この小紅斑の出現のころから流涙をとまなう結膜炎、水様鼻汁をとまなう鼻炎をおこし、紅斑が全身にひろがるころには、これらは化膿性となるのが常である。肛門部浮腫と下唇潰瘍は半数例にみとめられた。下痢をしめした例はまれで、また神経症状としては、1例に後肢麻痺がみられただけであつた。

解剖すると、一般に中等度の脾腫をみとめるほかには、特別の肉眼的変化はない。肺炎は少数例にみとめられた。肺、脾、とくに腎盂と膀胱上皮の塗沫Sellers染色標本¹³⁾で大多数の例に、Green¹⁴⁾の記載した原形質内封入体をみとめた。

初代発病フェレット、継代フェレットの20%脾臓乳剤の血液平板培養は陰性、またマウス(ddT, 4週)の脳

Table 1 Isolation of canine distemper virus in ferrets from spleen of naturally infected dogs.

Dog tested						Ferret inoculation ⁴			Strain isolated
No.	Place ¹	Breed ²	Age	Sex	Disease type ³	Date inocul.	Incubation	Course	
1	T	M	?	F	AN	¹⁹⁵⁴ IX 29	Negative		H-3
2	"	"	10m	"	A?	"	"		
3	H	"	4m	M	AN	X 28	3 days	5 days	
4	T	M	1 y	F	CN	¹⁹⁵⁵ I 11	5	8	H-4
5	"	"	5 m	"	A?	II 4	3	8	H-5
6	"	"	1 y	"	AN	III 5	Negative		H-11
7	"	"	1 y	M	A?	III 24	"		
8	"	"	1 y	"	A?	"	"		
9	"	"	6 m	F	A?	V 6	"		
10	"	"	1 y	"	CN	"	"		
11	H	"	4 m	"	A	VI 19	3	8	H-15
12	T	D	?	M	CN	V 6	Negative		
13	H	A	5 m	"	A	VI 1	"		
14	"	"	1 y	"	A	"	"		
15	T	S	3.5m	M	A	¹⁹⁵⁶ IV 30	5	11	H-18
16	"	M	1 y	"	A	"	Negative		
17	"	"	9 m	F	A	"	"	"	
18	H	A	1 y	M	H	V 12	14	10	H-20
19	T	M	1 y	F	C	VI 14	Negative		
20	"	"	1 y	M	A	"	7	15	
21	"	"	1 y	F	A	"	Negative		H-22
22	"	"	1 y	M	A	VIII 3	11	6	
23	"	"	1 y	"	A	"	Negative		
24	"	"	1 y	"	A	"	8	19	H-24
25	"	"	2 y	F	A	VIII 23	9	11	H-25
26	H	A	9 m	M	CN	VIII 30	Negative		H-27
27	T	M	1 y	F	AN	IX 15	6	13	
28	H	A	1 y	"	CN	X 2	Negative		
29	"	"	?	M	CN	"	"		H-30
30	"	M	7 m	"	AKN	IX 26	4	20	
31	"	"	1 y	"	AKN	XI 15	5	11	

1 H : Hikari City, Yamaguchi Pref. T : Tokyo Pref.

2 M : Mongrel. D : Doberman. A : Akita, Japanese. S : Setter.

3 Reported by local veterinarians or ascertained by the author. A : Acute, C : Chronic, K : Catarrhal, N : Nervous, H : Hard pads.

4 Inoculated intraperitoneally with 5 ml of 20% spleen suspension.

内、腹腔内接種により発症をみとめなかつた。pH 7.2 のリン酸緩衝食塩水に浮遊させた各種動物赤血球(人、犬、フェレット、鶏、マウス、牛、馬、羊)にたいする凝集反応(4℃、室温)も陰性であつた。

以上のように、犬の症状、さらにフェレットの症状、封入体の証明、マウスに発病性なく、赤血球凝集性のない点などから、これらの13株はいずれもジステンパーウイルスであろうと推定される。

Fig. 1 Clinical course of ferrets inoculated with naturally infected dog spleen.

2) 分離したフェレット株の同定

さいしよにえられた数株については、子犬復帰試験とフェレット継代試験をこころみたが、その状況を Fig. 2, 3 にしめた。2代継代フェレットの脾臓の20%乳剤5 ml を子犬の腹腔内に接種したところ、なかには発病しない犬もあったが、多くは定型的のジステンパー症状をしめた。フェレット継代試験ではいずれも確実に発症し、また回復するものはなかった。以上の成績は、分離したウイルスがいずれも CDV であろうと推定せしめるとともに、子犬の感受性には個体差が大きいことをしめている。つぎに、これらの分離株、L-F株、L-E株との間の交叉感染防禦試験をおこなった。分離株、L-F株では、感染フェレット脾臓の10%乳剤にホルマリンを0.2%くわえ、4℃、2週間おいてウイルスを不活化したものを、1 ml ずつ2回、7日間隔で、またL-E株は Lederle ワクチンを1 ml 1回、フェレットの腹腔内に注射した。最終注射後3週して、L-F、H-3-F、H-4-F株の感染フェレット脾臓10%乳剤を1 ml ずつ腹腔内接種した。その成績は Table 2 にしめすように、非免疫対照群はいず

Fig. 2 Dog and/or ferret passages of isolated strains.

れも定型的症状を呈して攻撃後およそ2週間で死亡したが、免疫群では、すべて感染耐過し、交叉免疫があ

See Fig. 2

Fig. 3 Clinical course of dogs inoculated with infected spleen of ferrets at the second passage level.

Table 2 Cross protection test in ferrets immunized with formalin vaccine.

Immunized with ¹	Results after challenge with ²		
	L-F	H-3-F	H-4-F
L-E	S	S	S
L-F	S	S	S
H-3-F	S	S	S
H-4-F	S	S	S
H-5-F	S	S	S
None	D 14	D 14	D 14

1 Two intraperitoneal injections with 1.0 ml each of 10% suspension of infected ferret spleen, inactivated with 0.2% formalin at 4°C for 2 weeks (L-F, H-3-F, H-4-F, H-5-F). An intraperitoneal injection of 1.0 ml of Lederle's live vaccine (L-E).

2 Intraperitoneal injection with 1.0 ml of 10% suspension of infected ferret spleen 3 weeks after the last immunizing dose.

S.....Survived, D14.....Dead 14 days after challenge.

きらかに成立することをみとめた。

さらに、分離ウイルス、H-3, H-4, H-5, とLederle ワクチンにたいする免疫血清について、Lederle ワクチン・ウイルスによる、CAM 接種中和試験と乳のみマウス脳内中和試験を行った。Table 3 にしめすように、H-3, H-4, H-5 株に感染し回復した犬の血清中にはL-E株にたいする中和抗体が産生されている。

またH-3株感染フェレットの脾臓からつくつたホルマリン・ワクチン(上述)を1mlずつ、7日間隔で2回注射し、さらに2週後活性ウイルス乳剤0.2mlを皮内接種した犬の血清中にもL-E株にたいする中和抗体が産生された。対照として用いたLederleワクチン接種によって作られたフェレット免疫血清はもちろんL-E株を中和した。

以上の成績から、これらの分離株はいずれもジステンパーウイルスと同定される。後に分離した株については、主としてフェレットにおける症状によつてCDVと判定するとどめ、これらのうち鶏胎化に成功した株についてのみ上記の交叉感染防禦試験とCDV中和試験とによる同定をおこなつた。

2. 鶏胎馴化試験

フェレットで分離した13株のすべてについて鶏胎馴化をこころみた。H-3, 4, 5, 11株では7日卵、H-15,

Table 3 Neutralization test on dog and ferret sera.

Animal ¹	Immunizing virus	Days after active virus	Neutralization test	
			CAM ⁴	Mouse ⁵
Dog No. 35	H-3-F active	Pre 22 days	<2 480	— +
Dog No. 46	H-4-F active	Pre 33 days	<2 620	— +
Dog No. 52	H-5-F active	Pre 24 days	<2 1280	— +
Dog No. 55	H-3-F inactive and active ²	Pre 14 days	<2 6300	— +
Ferret	Lederle live vaccine ³	14 days	6300	+

1 See Fig. 2.

2 Two intraperitoneal doses at 7 day interval of 1.0ml each of 10% infected ferret spleen inactivated with 0.2% formalin and an additional dose of 0.2ml of 10% virulent ferret spleen, 14 days following the last vaccine injection.

3 Two intraperitoneal injections with 1.0 ml each of the vaccine.

4 The figures represent the reciprocal of serum dilution which showed 50% neutralization with Lederle vaccine virus by chorio-allantoic inoculation.

5 The test was performed by inoculating intracerebrally into suckling mice with 0.02 ml amounts of mixtures of two-fold diluted serum and an equal volume of a 10% brain suspension infected with the virus adapted to the suckling mouse brain.

— Mice died of typical encephalitis.

+ Mice survived.

18, 20, 22, 24, 25, 27, 30株では5日卵を用いた。H-31株については後にのべる。H-3, 4, 5, 11株はフェレット3代、その他の9株は2代の感染脾臓の20%乳剤から出発した。この乳剤0.2mlずつを10~15個の卵のCAM上に接種し、36°C, 7日培養後、CAMをとり、その変化の有無にかかわらず合併して40%乳剤をつくり、その0.2mlずつをさらに10~15個の卵のCAM上に継代することをつづけた。第4代およびその後適宜の代において、CAM 40%乳剤の一部をとり、その1~5 mlをフェレットの腹腔内に接種した。発症をみと

めない場合には、21日後にL-F株感染脾臓10%乳剤1 mlを腹腔内接種して、感染防禦試験をおこなった。

いずれの株も継代4代ではCAMの変化はみとめられなかった。そのCAM乳剤のフェレット感染試験においては、H-15、30の2株のみがフェレットを発症させたにすぎなかった。他の株ではフェレットが発症しなかったばかりでなく、L-F株の攻撃にも耐えなかった。さらに継代をかさねたが、H-11、18、20、22、24、25、27の7株は20代にいたつてもなおCAMの病変をみとめるにいたらず、前記の4代目のフェレット復帰試験の成績とあわせ考えると、いずれも継代に失敗したものだと思われる。

H-3、4、5株は6～9代でCAMに浮腫と少数の灰白色点状病変を生ずるにいたつた。この病変はLederleワクチンのしめす軽度の変化と区別しがたいものであったが、以後継代をかさねても病変の強さをますことはなかった。また20、25代においてフェレットを感染発病せしめず、しかもL-F株にたいし感染防禦できなかった(Table 4)。このCAMにあらわれた病変は何によるものか不明であるが、これらの株の鶏胎化はできなかったものとみとめられる。

Table 4 Cross protection test in ferrets immunized with egg passaged viruses.

Immunized with ¹	Results after challenge with ²			
	L-F	H-3F	H-4-F	H-5-F
L-E	S	S	S	S
H-3-E ₂₅	D 14	D 12	D 16	D 15
H-4-E ₂₅	D 14	D 12	D 18	D 13
H-5-E ₂₅	D 15	D 13	D 17	D 15
None	D 15	D 12	D 18	D 14

See the foot-notes of Table 2.

1 Two intraperitoneal doses of 1.0ml each of 40% suspension of infected chorioallantoic membranes.

2 Intraperitoneal injection with 1.0 ml of 10 % suspension of infected ferret spleen 2 weeks after the last immunizing dose.

5日卵をもちいて継代されたH-15、30の2株はそれぞれ13代、7代でCAMに病変をしめしはじめ、代をかさねるとともにしだいに病変がつよくなり、Lederleワクチンによるそれとまったく同じ変化をしめすにいたつた。このCAM病変の肉眼的所見は、浮腫をとも

Fig. 4 Changes of chorioallantoic membrane infected with H-15-E strain at the 28th egg passage level.

なう孤立した粟粒大の黄灰白色の結節で、これが癒合して紐状に連続する結節斑をつくり、この変化は血管の所在とは関係がない (Fig. 4)。H-31株では、さいしよの3代は卵黄嚢内に0.2mlずつ接種し、36℃、7日培養後CAM、卵黄嚢(YS)、胎児をとり、合併して20%乳剤をつくり、これを接種材料としてYS内継代をおこなった。4代目に5日卵CAM上にうつし、以後CAM継代をつづけた。4代目、はじめてCAM継代にきりかえたとき、すでに軽度ではあるが、定型的の病変がCAMにあらわれた。この代のCAM乳剤をフェレットに接種したが発病しなかった。しかし後のL-F株感染にたいし免疫になっていた。さらに継代をつづけるにつれて、CAMの病変はしだいに強くなった。

これらの卵継代株をあらわすのに、たとえばH-15株の場合H-15-Eであらわし、卵継代数をしめしたいときは、H-15-E₂₀のごとくすることにする。フェレット継代株ではEのかわりにFを用いる。

つぎに、H-15、30、31の卵継代できた株について、感染防禦試験、中和試験によつて同定をおこなった。すなわち、H-15-E₂₀、H-30-E₁₅、H-31-E₁₀の感染CAM 40%乳剤1 mlをフェレットに1回腹腔内接種し、2週後に各株のフェレット継代ウイルスとL-F株の感染フェレット脾臓10%乳剤1 mlを腹腔内接種して攻撃をおこなった。対照としてL-E株 (Lederleワクチン)

1 ml 腹腔内接種によつて免疫したフェレットをもくわえた。結果は、Table 5 にみられるように、あきらかに交叉免疫が成立していることをしめしている。中和試験に用いた血清はフェレットとモルモットでつくつた。免疫用ウイルスは H-15-E₂₁, ₂₂ と L-E をもちいた。これらウイルスの感染 CAM 40% 乳剤を、フェレットには 1 ml ずつ、2 回、7 日間隔で、モルモットには 1 ml ずつ、4 回、7 日間隔で、それぞれ腹腔内接種し、最終注射の 2 週後に全採血し、えられた血清について H-15-E₂₅, H-30-E₁₂, H-31-E₉, L-E ウイルスを用いて CAM 中和試験をおこなつた。Table 6 にしめすように、交叉中和が成立することがたしかめられた。

以上によつて H-15-E, H-30-E, H-31-E の 3 株は鶏胎化ジステンバーウイルスと判定される。この鶏胎化の過程において、これら 3 株、ことに H-30, H-31 が、Cabasso and Cox²³⁾ の記載にくらべ比較的わずかの継代で馴化するにいたつたことが、とくに注目される。

Table 5 Cross protection test in ferrets immunized with egg-adapted viruses.

Immunized with ¹	Results after challenge with ²							
	H-15-F		H-30-F		H-31-F		L-F	
H-15-E ₂₀	S	S	S	S			S	S
H-30-E ₁₅	S	S	S	S			S	S
H-31-E ₁₀					S	S	S	S
Lederle vaccine	S	S	S	S	S	S	S	S
None	D	D	D	D	D	D	D	D
	15	14	14	14	15	15	14	14

See the foot-notes of Table 2.
1 Intraperitoneal inoculation with 1.0ml of 40% suspension of infected chorioallantoic membranes.
2 Intraperitoneal inoculation with 1.0 ml of 10 % suspension of infected ferret spleen 2 weeks after the immunizing dose.

Table 6 Cross neutralization test of egg adapted viruses on chorioallantoic membrane.

Serum			Changes of chorioallantoic membrane when tested with			
Animal	Virus	Dilution (-log)	H-15-E ₂₅	H-30-E ₁₂	H-31-E ₉	L-E
Ferret	H-15-E ₂₂	1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
		2	- - - - -	- - - +	- - - - -	- - - +
		3	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +
		4	## ## ## ##	## ## ##	## ## ## ##	## ## ## ##
	Lederle vaccine	1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
		2	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
		3	- + + + +	- + + +	- - - - -	- - + + +
		4	## ## ## ##	## ## ## -	- - - - -	## ## ##
Guinea Pig	H-15-E ₂₁	1	- - - - -			- - - - -
		2	- - - - -			- - - + +
		3	+ + + + +			+ + + +
		4	+ + ## ## ##			## ## ## ##
	Lederle vaccine	1	- - - - -			- - - - -
		2	- - - - -			- - - - +
		3	- + + + +			- + + + +
		4	+ + ## ## ##			- ## ## ## ##

The animals were immunized by inoculating intraperitoneally with 2 doses (to ferrets) or 4 doses (to guinea pigs) of 1.0ml each of lederle's live vaccine or 40% suspension of infected chorioallantoic membranes at intervals of 7 days and bled 14 days after the last injection. The test dose of virus is 10^{3.3}, 10^{3.3}, 10^{3.3} and 10^{2.0} for the strains H-15, H-30, H-31, and L-E, respectively.

Cabasso and Cox^{4,23)}は7日卵を用いたのに反し、私は5日卵を用い、また H-31 株では3代まで3日卵のYS内継代をおこなっている。後にのべるが、鶏胎化株の発育鶏卵内増殖は卵令の若いものほどよいという事実と考えあわせると、馴化のはやさと卵令との間に密接な関係があることが考えられる。

H-31株では3日卵YS内継代を用いて、きわめてすみやかに卵に馴化したので、この方法を他の2株にこころみてみた。用いた株は、前の実験で7日卵を用いて卵継代に失敗したH-3株と、5日卵のCAM継代によつて7代からCAM病変のみられたH-30株とである。前回の卵継代の成績とともに、その結果をFig. 5

Fig. 5 Adaptation of isolated ferret strains to developing chicken embryo by yolk sac passages in 3-day eggs and by chorioallantoic passages in 5-or 7-day eggs.

にしめた。H-30株は3日卵YS内継代を2代おこない、3代目からCAM継代にきりかえ、CAM病変の出現をしらべたところ、4代目にすでに病変があらわれたにいたつた。H-3株では3日卵YS内継代3代のうちCAM接種にうつつたが、さいしよのCAM接種ですでに病変があらわれた。このCAM材料をフェレットに接種したが、発症せず、後のL-F株接種に耐過した。これらの成績は、例数はわずかであるが、3日卵YS内接種の継代法が鶏胎化にきわめてよい方法であることをしめている。

3. 鶏胎化ウイルスの発育鶏卵内増殖

この試験は主としてさいしよに鶏胎化したH-15株についておこなつた。

Table 7 Propagation of egg adapted virus (H-15-E) in chorioallantoic membrane when inoculated on membrane of 7-day eggs.

Incubation in days	Changes of CAM	Average weight of CAM ¹	ID ₅₀ 's in log in 0.2ml of 40% CAM susp.
1	—	0.52 g	≤ 0.9
3	+	0.74	3.3
5	++	0.94	3.7
6	++	1.4	≥ 4.6
7	+++	1.3	4.8
9	+++	1.5	4.3

1 In most instances 5 eggs were used.

まず、H-15-E₃₂ウイルスを7日卵CAM上に接種し、培養日数とCAMの病変の程度、CAMの重さ、およびウイルス含量との関係をしらべた。Table 7に示すように、CAMの変化は3日であらわれ、しだいに強くなり、7日で最強となる。これにともないウイルスも増殖し、7日で感染価が最高となる。これはStunzi et al¹⁵⁾の成績と一致している。この成績を膜1枚あたりのウイルス量とともにしめたのがFig. 6である。ウイルス総量からいつても培養7日が最高であつ

Fig. 6 Propagation of egg-adapted distemper virus (H-15-E strain) on chorioallantoic membrane of 7-day eggs.

た.

7日卵CAM接種7日培養後の各種材料, CAM, YS, 胎児, 尿膜腔液の感染価をしらべたのが Table 8 である. CAMのみならずYSにおいてもウイルスは同程度に増殖し, 胎児にもある程度の増殖があるが, 尿膜腔液の感染価はひくい.

Table 8 Growth of egg adapted virus (H-15-E) when inoculated into 7-day eggs by chorioallantoic or yolk sac route and cultured for 7 days at 36°C. (Average of 10 eggs).

Route of inoculation	Tissue tested	Average weight	ID ₅₀ 's in 0.2 ml of 40% susp. (log)	ID ₅₀ 's per egg (log)
CAM	CAM	1.22g	5.0	6.2
	Eb	6.47	3.7	5.6
	YS	1.50	≥5.1	≥6.5
	Fl		1.5	
YS	CAM	0.87	≥5.0	≥6.0
	Eb	4.35	≥4.8	≥6.5
	YS	3.28	≥5.3	≥6.9
	Fl		≥0.7	

CAM: Chorioallantoic membrane.

Eb: Embryo. YS: Yolk sac.

Fl: allantoic fluid.

Infectivity of allantoic fluid is expressed as ID₅₀'s in log in 0.2 ml of undiluted fluid.

これまでの文献では鶏胎化 CDV の卵接種はすべて CAM 上におこなわれているが, 上の実験で CAM 接種の場合ウイルスは CAM ばかりでなく YS にもよく増殖することがわかつたので, 7日卵の YS 内接種をおこなってみた (Table 8). この場合には CAM 上接種にくらべ, YS の重さの増加がいちじるしく, またウイルスの増殖もよい. 胎児の発育はややわるいが, ウイルス含量は比較的高い. この接種路でも CAM にウイルス増殖がつよくおこっているが, 肉眼的変化は CAM 上接種の場合よりもややかるく, その結節斑は多少でまん性にみえる.

YS 接種によりウイルスがよく増殖することを知つたので, この接種法における各種の条件のウイルス増殖におよぼす影響をさらにくわしくしらべた. まず 3, 5, 7日卵に YS 内接種し, 培養7日後の全組織 (CAM + YS + 胎児) のウイルス含量をしらべると, Table 9 のように, 卵令の若いほど感染価がたかく, 組織量が

Table 9 Comparison of growth of egg-adapted virus (H-15-E) when inoculated into 3-, 5-, and 7-day eggs by yolk sac route and cultured for 7 days at 36°C (Average of 10 eggs).

Exp. No.	Age of eggs	Tissue weight per egg ¹	ID ₅₀ 's in 0.2 ml of 40% susp. (log)	ID ₅₀ 's per egg (log)
1	3 days	2.50g	6.1	7.6
	5	7.08	4.9	6.9
	7	10.05	4.5	6.6
2	3	1.20	5.9	7.1
	5	5.24	5.3	7.1
	7	8.74	4.8	6.8

¹ Chorioallantoic membrane + yolk sac + embryo.

Fig. 7 Relationship of virus growth and amount of inoculated virus. H-15-E strain, yolk sac inoculation into 3-day egg, 7-day incubation.

少いにかかわらず総量ウイルスも大きい. 3日卵を用い, YS 内接種における接種ウイルス量と増殖したウイルス量との関係を見ると, Fig 7 にしめすように, 増殖ウイルス量は接種ウイルス量にはほぼ比例し, およそ 100 倍に増加することがわかる. 3日卵を用いたときの各組織の増殖ウイルス量は, Table 10 にみられるように, 7日卵接種のときとほぼ同じ傾向であるが, 各組織内のウイルス含量は 7日卵のそれにくらべやや大きい. 3日卵 YS 内接種における培養日数とウイルス増殖との関係は, Fig. 8 のような成績で, 7日卵接種のときと同様, 培養7日が最高である. 9日以上培養ではウイルス含量は急にへる. これは, ウイルス増殖の高度のものは胎児の死亡をおこすため, その低いもののみが生きのこるためと思われる.

卵令とウイルス増殖との関係をさらにくわしくするために, 1日卵から7日卵までを用い, 培養日数をか

Fig. 8 Propagation of egg-adapted virus (H-15-E strain) when inoculated into 3-day eggs by yolk sac route.

えて実験した。その成績は Tables11~14 にしめすよう
で、これらをFig.9に総括した。平均して、えられ
るウイルス濃度、ウイルス総量とも若い卵ほどよく、

Table 11 Age difference in capacity of developing eggs to support multiplication of egg-adapted virus inoculated by yolk sac route.
Experiment I (Inoculum : $10^{2.8}$ ID₅₀, H-15-E₃₅)
(Average of 5-10 eggs)

Age of eggs (days)	Incubation (days)	Average weight (g) ¹	ID ₅₀ 's in 0.2 ml of 40 % susp. (log)	D ₅₀ 's per egg (log)
1	3	0.38	4.1	4.9
	5	0.92	5.0	6.1
	7	2.26	6.0	7.5
	9	4.3	4.8	6.5
2	3	0.48	3.7	4.5
	5	1.32	4.9	6.1
	7	3.37	5.5	7.1
	9	5.9	5.2	7.7
3	3	0.76	2.1	3.1
	5	2.2	4.2	5.6
	7	5.24	4.9	6.7
	9	7.2	4.7	6.7
4	3	1.6	1.9	3.2
	5	3.96	4.0	5.7
	7	6.66	4.9	6.6
	9	10.4	4.5	6.6

1 Chorioallantoic membrane + yolk sac + embryo.

Table 10 Propagation of egg-adapted virus (H-15-E) in various tissues when inoculated into 3-day eggs by yolk sac route and cultured for 7 days at 36°C. (Average of 10 eggs).

Tissue tested	Average weight	ID ₅₀ 's in 0.2ml of 40% susp. (log)	ID ₅₀ 's per egg (log)
CAM	0.44 g	6.5	7.2
Eb	1.18	5.1	6.3
YS	1.38	5.8	7.0
Fl		2.2	
Yolk		2.8	

See the foot-notes of Table 8.
Infectivity of yolk is expressed as ID₅₀'s in log in 0.2ml of undiluted material.

1~3日卵と7日卵とではかなりの差がみとめられ
る。しかし、いずれの卵令でも7日培養で最高感染価
にたつた。

Table 12 Age difference in capacity of developing eggs to support multiplication of egg adapted virus inoculated by yolk sac route.
Experiment II (inoculum : $10^{3.0}$ ID₅₀, H-15-E₃₅)
(Average of 5~10 eggs)

Age of eggs (days)	Incubation (days)	Average weight (g)	ID ₅₀ 's in 0.2 ml of 40 % susp. (log)	ID ₅₀ 's per egg (log)
2	3	0.56	3.1	3.9
	5	1.34	4.9	6.1
	7	2.81	6.5	8.0
	9	5.62	5.1	6.9
3	3	0.98	3.0	4.1
	5	2.45	4.3	5.9
	7	4.52	5.2	7.0
	9	8.28	4.8	6.8
4	3	2.11	2.8	4.2
	5	3.82	4.0	5.7
	7	6.63	5.0	6.9
	9	12.6	4.8	7.0
5	3	2.51	2.9	4.4
	5	5.31	3.9	5.7
	7	7.97	4.9	6.9
	9	14.1	4.6	6.8

See the foot-note of Table 11.

Table 13 Age difference in capacity of developing eggs to support multiplication of egg adapted virus inoculated by yolk sac route.Experiment III (inoculum : $10^{3.1}$ ID₅₀, H-15-E₂₉)
(Average of 5-7 eggs)

Age of eggs (days)	Incubation (days)	Average weight (g)	ID ₅₀ 's in 0.2 ml of 40% susp. (log)	ID ₅₀ 's per egg (log)
3	3	0.86	3.5	4.5
	5	2.1	4.5	5.9
	7	3.8	5.8	7.5
	9	6.2	4.7	6.6
4	3	1.54	2.9	4.2
	5	3.88	4.1	5.8
	7	6.1	5.6	7.5
	9	8.3	4.9	6.9
5	3	3.0	3.3	4.9
	5	5.6	4.5	6.3
	7	7.8	4.9	6.9
	9	14.2	4.9	7.1
6	3	3.2	3.7	5.3
	5	4.84	4.5	6.3
	7	9.0	4.7	6.8
	9	16.3	4.8	7.1

See the foot-note of Table 11.

以上の実験により、CAM上接種よりもYS内接種の方がウイルス増殖によいことが明らかで、またこの方法は操作もかんたんであるので、きわめて有利な方法であると考えられる。また卵令は、従来多く用いられてきた7日卵よりさらに若いものほどウイルス増殖によいこと、培養は7日が最適であること、などが明らかになった。

4. 鶏胎化ウイルスの抗原性

West et al¹⁶⁾ (1956) によれば、鶏胎化ウイルスの鶏胎にたいする感染能とフェレットにおける免疫原性とはかならずしも平行しないといわれる。しかし私のえた3株の鶏胎化ウイルスはいずれも、フェレットに免疫原性を有し、免疫後強毒株の感染を防ぐことができることは、すでにしめた。

そこで、この実験では H-15-E 株をもちいてワクチンをつくり、免疫に用いるウイルス量とできる免疫の程度との関係を検討した。H-15-E₃₀ ウイルスを5日卵のYS内に接種し、7日培養後全組織の40%乳剤をつ

Table 14 Age difference in capacity of developing eggs to support multiplication of egg adapted virus inoculated by yolk sac route.Experiment IV (inoculum : $10^{4.0}$ ID₅₀, H-15-E₃₀)
(Average of 5-7 eggs)

Age of eggs (days)	Incubation (days)	Average weight (g)	ID ₅₀ 's in 0.2 ml of 40% susp. (log)	ID ₅₀ 's per egg (log)
4	3	1.7	3.2	4.5
	5	2.96	4.7	6.3
	7	6.6	4.9	6.8
	8	9.8	4.5	6.6
5	3	2.6	3.0	4.5
	5	5.2	3.5	5.3
	7	9.2	4.5	6.6
	9	12.4	3.7	5.9
6	3	3.64	3.3	5.0
	5	6.4	4.4	6.3
	7	10.6	4.7	6.8
	9	16.8	4.5	6.8
7	3	5.3	3.0	4.8
	5	8.0	3.5	5.5
	7	16.0	3.5	5.6
	9	22.0	3.0	5.4

See the foot-note of Table 11.

Fig. 9 Age difference in capacity of developing eggs to support multiplication of egg-adapted virus (H-15-E strain). Summary of the results shown in Tables 11-14.

Note: Average titer for each age is connected by lines. The figures on the lines represent the age of eggs in days.

Fig. 10 Protection test in ferrets immunized with lyophilized live vaccine prepared with H-15-E strain.

くり、これを凍結乾燥したものをワクチンとして用いた。この乾燥ワクチンの子犬に注射して、中和抗体の産生をしらべ、フェレットに接種して、生ずる免疫を感染防禦試験によつてしらべた。その成績は Figs. 10, 11, Tables 15~17 にしめた。

Fig. 10は、ウイルス濃度 $10^{2.5}ID_{50}/0.2ml$ の乾燥ワクチンをフェレットに1 ml, 1回腹腔内接種し、2週後原フェレット株 H-15-F の腹腔内接種によつて感染防禦試験をおこなつた成績である。2頭の対照フェレットは強毒株接種により発症し、死亡または瀕死期にころされたが、ワクチン接種をうけた4頭は強毒株攻撃後何ら異状をみとめず耐過した。

Fig. 11 は、子犬に同じワクチン原液と 100 倍稀釈のものを 2 ml ずつ 1 回皮下に注射し、1 週毎に採血して、血清中の中和抗体をしらべたものである。ワクチン原液注射のものでは 2 週後よに中和抗体の産生がみとめられ、4 週で最高抗体価にたつし、以後 10 週までいくぶんの抗体価の低下をしめしながら持続することがわかつた。しかし、100 倍稀釈ワクチン注射をうけた群ではいずれも中和抗体の産生がみとめられなかつた。

つぎに、乾燥ワクチンのフェレットにおける最少免疫量をもとめる実験においては、Table 15 にしめすよ

Table 15 Determination of minimum immunizing dose of lyophilized live vaccine (H-15-E) in ferrets.

Dilution of vaccine	Amount of active virus in vaccine inoculated	Results of challenge ¹
1 : 1	1000 ID_{50}	0/2
1 : 10	100 //	0/2
1 : 100	10 //	0/2
1 : 1000	1 //	2/2
Control	—	2/2

1 Challenged by intraperitoneal inoculation with 1.0 ml of 10 % suspension of ferret spleen infected with H-15-F strain. The denominator represents the number of ferrets employed for the test and the numerator the number of ferrets which died of distemper after the challenge.

Fig. 11 Production of neutralizing antibody in puppies immunized with lyophilized live vaccine prepared with H-15-E strain.

Table 16 Production of neutralizing antibody in puppies vaccinated with lyophilized live vaccine(H-15-E) stored at various temperatures.

Puppy No.	Vaccine stored	Infectivity of vaccine ¹	Antibody titer after 4 weeks (neg. log of serum dil).
161	at 4 °C for 2.5 months	12/12	3.3
162			3.1
163			3.3
164			3.3
165			3.5
166	at 22°C for 2.5 months	5/11	0.3
167			0.3
168			0.3
169			0.3
170			0.3
171	at 37°C for 2.5 months	0/10	0.3
172			0.3
173			0.3
174			0.3
175			0.3

The vaccine was inoculated subcutaneous-ly into puppies with 2.0 ml amounts.

1 The denominator represents the number of eggs inoculated on the chorioallantoic membrane with 0.2ml of undiluted vaccine. The numerator represents the number of eggs showing typical lesions.

2 Test dose : $10^{2.1}$ ID₅₀, H-15-E₃₇ strain.

うに, 100倍稀釈ワクチン接種, すなわち10 ID₅₀に相当するウイルス量1回の接種であきらかに強毒株攻撃にたえる免疫ができたが, その1/10量のワクチン注射では感染防禦がみとめられなかつた.

乾燥ワクチンを種々の温度, 時間においてウイルスの不活化をしらべるとともに, 免疫原性の低下をしらべた. Table 16は4, 22, 37°Cに2.5月たもつたワクチンについての実験結果である. 4°C保存のワクチンは2.5月後CAMに未稀釈のまま接種すると, 12個中全例病変を生じ, 活性ウイルス量は少くとも $10^{0.5}$ ID₅₀/0.2 ml あることになる. これを2 ml, 子犬の皮下に注射すると, 4週後の血清はすべて強い中和能をもつていた. ところが22°C保存のワクチンの活性ウイルス量はほぼ 10^0 ID₅₀/0.2mlであつて, これを2 ml, 皮下に注射された子犬の4週後の血清は中和抗体陰性であつた. 37°C保存のワクチンはウイルス活性をみとめず, 子犬に接種しても, 中和抗体はできなかつた. Table

Table 17 Protection test in ferrets vaccinated with lyophilized live vaccine (H-15-E) kept at 37°C for various periods.

Days of incubation at 37°C	Infectivity of vaccine ¹			Results of challenge ²		
	concentration			concentrations of challenge virus		
	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
5	++++	++++	----	S		
	----	----	----	S		
7	++++	+----	----	S		
	----	----	----	D7-14		
14	++++	----	----	D8-12		
	----	----	----	D8-15		
21	----	----	----	D7-15		
	----	----	----	D7-15		
	Control			D8-17 D8-16	D10-16 D10-16	S S

The vaccine was inoculated intraperitoneally into ferrets with 1.0ml amounts.

1 The vaccine diluted as indicated in the table was inoculated on the chorioallantoic membrane with 0.2ml amounts.

+.....Egg showing typical lesions in the chorioallantoic membrane.

-.....Egg showing no lesions.

2 The H-15-F₃ virus was inoculated intraperitoneally with 1.0ml amounts 2 weeks after immunization.

S.....Ferret surviving.

D7-14.....Ferret which became ill and died 7 and 14 days, respectively, after the challenge.

17は、乾燥ワクチンを37°Cに 5, 7, 14, 21日 おいた場合で、5日ですでに $10^{0.6}$ ID₅₀/0.2mlと感染能がおり、7日で 10^0 ID₅₀/0.2ml、14日ではわずかにウイルス活性をみとめ、21日で検出できなくなった。このワクチンを1ml フェレット腹腔内に接種後2週間たつてH-15-F株で攻撃すると、 $5 \times 10^{0.6}$ ID₅₀の活性ウイルスをふくむワクチン接種（5日保存）では2頭とも耐過したが、わずかに5 ID₅₀の活性ウイルスしかのこつていなかった7日保存ワクチンでは2頭中1頭が攻撃にたえたのみで、これよりながく37°Cにおいたワクチンではフェレットを免疫しえなかった。

以上の成績からみれば、免疫はごく少量の鶏胎化ウイルス接種でたつせられることになるが、犬の中和抗体産生にはフェレットの感染防禦に要するウイルス量よりいくぶん多量を要する傾向があるようである。

考 察

ジステンパーウイルス (CDV) の研究にフェレットの使用がきわめて重要な手段であることは多くの文献から明らかであるが、この研究においてもその事実を確認することができた。犬からフェレットに分離したばかりのCDVが、よく注意して飼われ、中和抗体のないことのたしかめられた子犬にも、その全数に復帰できなかった事実は、分離にわずか1代用いたフェレットに馴化する傾向のあらわれかもしれないが、犬の材料を直接子犬に接種しても、およそ半数を罹患せしめるにすぎないこと¹⁷⁾からみて、犬の感受性の個体差と考えるべきであろう。

各種の動物に自然感染しているジステンパーの病原が一元であるか否かについては、なお多くの議論がある。犬から分離し、フェレット継代をくりかえしたCDVが犬に病原性をうしなう傾向のあること、ミンク¹⁸⁾、キツネ¹⁹⁾、その他の動物²⁴⁾の自然感染からえられたCDVはいずれも容易かつ確実にフェレットに感染すること、などとも考えあわせ、犬、ミンク、キツネ、フェレットなどの発病機序、ウイルスの変異など比較検討の必要があると考えられる。

この研究で31頭の臨床的犬ジステンパーの42%からしかCDVをフェレットに分離できなかった。残りのものが犬ジステンパーでなかった証拠にはもちろんなりえない。犬の病型、病期によるウイルスの体内分布、濃度についてさらに検討さるべきである。私の陰性例は、少くとも用いた脾臓にフェレットを発症させるに足る充分の量のウイルスがふくまれていなかった

にすぎない、と解釈するのがよいかもしれない。

これまでの文献でも、私の実験でも、CDVを鶏胎に馴化することはかならずしも容易ではなく、どの株でもできるというものではない。また、たとえできたとしても、そのウイルスが動物に感染防禦能をあたえるとはかぎらないことは、West et al¹⁶⁾のしめすところである。この点に関し私の実験でとくに注目すべき点は、3日卵というような若令卵のYS内接種法がこの馴化をきわめて容易にすることである。このことはそれ自身重要な知見であるが、またこの鶏胎化の機序、その道程における免疫原性、病原性の変化などについての研究に重要な意義をもつと考えられる。

鶏胎化ウイルスの発育鶏卵内増殖において、卵令の若いものほど増殖がよく、またYS内接種がCAM接種よりまさるともおとらない増殖をしめすことを明らかにしたが、これはこのウイルスの研究、あるいはワクチンの製造に重要な知見と考えられる。YS内接種したとき、YSが肥厚して高度のウイルス増殖をしめす点、またCAMの変化がCAM上接種の場合とやや異なるが、CAMは同程度のウイルスをふくむ点などが明らかにされたが、この場合のウイルス増殖を解明するためには、組織学的の検討など他の方法による検討が必要であろう。これらの研究はまたCDVの鶏胎化が若令卵YS内接種法により促進される機序の解明とも関連して、重要であろうと思われる。

この研究でとくに1～3日卵といった若令卵を実験に用いた動機は、吉野²⁰⁾のヘルペス・ウイルスの研究にあつたのである。これまで発育鶏卵はウイルスの研究にひろく用いられてきたが、その多くは5日以上ふ卵したものを用いている。もつと若い卵が用いられたこともあるが、実験技術上の困難もあつてひろく用いられなかったと思われる。吉野²⁰⁾はこの実験技術上の困難を解決し、ヘルペス・ウイルスがよく増殖することをしめした。その後狂犬病、天然痘、ワクシニア、日本脳炎、デング熱、Col-SK、リフトバレー熱などの各種のウイルスでも研究され、若令卵の有用性がみとめられてきた (Matumoto²¹⁾をみよ)。私の実験は、CDVの研究にもこのような若令卵の応用が意義あるものであることをしめしたものと考えられる。

Ott et al²²⁾はCDV鶏胎化株のウイルス量と免疫能との間に平行性のあることをしめしたが、この研究におけるH-15-E株による成績もこれとよく一致している。ごく少量の活性ウイルス接種によつて犬やフェレットに免疫をあたえる事実、この鶏胎化ウイルス

が犬やフェレットに病気をおこさないにかかわらず、ある程度感染増殖することをしめすものと考えられる。このウイルスのワクチンとしての効果は、接種されたウイルスが感染増殖し、その結果生ずる免疫によるものと解される。

結 論

1. 臨床的にジステンパーと診断された犬31頭の脾臓乳剤をフェレットに接種し、ジステンパーウイルス13株をえた。これらの株について既知ジステンパーウイルス株を用いて同定試験をおこなった。

2. これらの株すべてについて発育鶏卵継代をおこない、3株を鶏胎化することができた。

3. 鶏胎化株 H-15 につき発育鶏卵における各種の条件のウイルス増殖におよぼす影響を検討し、若令卵の YS 内接種によつてもつとも多量の活性ウイルスがえられることを見いだした。

4. 鶏胎化株 H-15 について、犬の中和抗体産生試験、フェレットの感染防禦試験をおこない、この株が免疫原性を保有していることをたしかめ、さらにウイルス接種量と免疫の程度との関係をあきらかにした。

終りにのぞみ、終始御指導を賜った伝染病研究所長野泰一教授、ならびに実験の御指導と御校閲を賜った当細菌部長金子順一博士、さらに御激励を賜った伝染病研究所田嶋嘉雄教授に深甚の謝意を表します。また、貴重なジステンパーウイルス Lederle フェレット株を分与していただき、この研究の遂行を容易にして下さった東京大学農学部越智勇一教授にあつく御礼申上ます。なお、困難なフェレットの繁殖に従事してこの研究を推進していただいた当初の関係各位、ならびに実験の援助をしていただいた寺尾美祢子君にふかく

感謝します。

文 献

- 1) Dunkin, G. W., and Laidlaw, P. P. *J. Comp. Path. Therap.*, **39**, 201, 213, 1926.
- 2) Haig, D. A. Onderstepoort *J. Vrt. Sc. and Anim. Husb.*, **23**, 149, 1948.
- 3) Haig, D. A. *J. South Afr. Vet. Med. Ass.*, **19**, 73, 1498.
- 4) Cabasso, V. J., and Cox, H. R. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **71**, 246, 1949.
- 5) Gutierrez, J. C., and Gorham, J. R. *Amer. J. Vet. Res.*, **16**, 325, 1955.
- 6) Baker, G. A., Goham, J. R., and Leader, R. W. *Amer. J. Vet. Res.*, **15**, 102, 1954.
- 7) Ott, R. L., Goham, J. R., and Gutierrez, J. C. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, **126**, 290, 1955.
- 8) Cabasso, V. J., Stebbins, M. R., and Cox, H. R. *Vet. Med.*, **48**, 147, 1953.
- 9) Koprowski, H., Jervis, G. A., Tames, T. R., Burkhart, R. T., and Poppensick, G. C. *Amer. J. Hyg.*, **51**, 63, 1950.
- 10) Mansi, W. *Brit. Vet. J.*, **107**, 214, 1951.
- 11) Singleton, W. B., and Hunter, J. E. *Vet. Rec.*, **68**, 21, 1956.
- 12) Larin, N. M. *Nature*, **173**, 174, 1956.
- 13) Sellers, J. F. *Amer. J. Pub. Hlth.*, **17**, 1080, 1927.
- 14) Green, R. G., and Evans, C. A. E. *Amer. J. Hyg.*, **29**, 73, 1939.
- 15) Stunzi, H., Giliespie, and Ciliker, A. *Cornell Vet.*, **44**, 211, 1954.
- 16) West, J. L., McNutt, S. H., and Brandly, C. A. *Cornell Vet.*, **46**, 39, 1956.
- 17) 渋谷実, 金子順一, ジステンパー血清に関する研究: 昭和35年第49回日本獣医学会発表
- 18) Shaw, R. N. *Vet. Rec.*, **45**, 513, 1933.
- 19) Green, R. G. *Amer. J. Hyg.*, **41**, 7, 1945.
- 20) Yoshino, K. J. *Immunol.*, **76**, 301, 1956.
- 21) Matumoto, M. J. *Immunol.*, **82**, 219, 1959.
- 22) Ott, R. L., Goham, J. R., and Farrell, R. K. *North Amer. Vet.*, **38**, 219, 1957.
- 23) Cabasso, V. J., and Cox, H. R. *Cornell Vet.*, **42**, 96, 1952.
- 24) Crook, E., and McNutt, S. H. *Amer. J. Vet. Res.*, **19**, 223, 1958.